

Formação das castas no gênero *Melipona*

(Illiger, 1806) (*)

NOTA PRÉVIA

Warwick E. Kerr

Assistente da Seção de Genética da Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo

ÍNDICE

Introdução	300	Resultados	302
Efeitos da mudança de		Abstract	309
alimentação	301	Bibliografia	311
Constância da proporção		Explicação das figuras ..	312
das castas	301		

(*) Entregue para a publicação em 5-VII-1946.

INTRODUÇÃO

O gênero *Apis*, apesar de ser demasiadamente especializado, tem sido tomado como base quando é estudada a formação das castas de todos os insetos sociais. A razão dessa generalização reside no fato de, sendo as diversas espécies de *Apis* dos insetos mais úteis, serem também dos de biologia mais estudada. Um dos particulares da sua biologia foi o observado por DZIERZON (1845), que verificou na postura de uma rainha existirem ovos de 2 naturezas: fecundados e não fecundados. Os fecundados apresentariam todos a mesma constituição, porém, segundo a alimentação que recebessem tornar-se-iam operárias ou rainhas. Esta última observação, que é certa para o gênero *Apis*, foi em seguida adaptada para outros insetos sociais, inclusive os Meliponídeos. O fato da presente nota é demonstrar que pelo menos no tocante ao gênero *Melipona* a formação das castas operárias e rainhas não é devida a fatores tróficos, e sim a constituição gênica diferente.

Material: — colônias de: *Melipona quadri-fasciata anthidioides* (Lep., 1836), *Melipona quadri-fasciata vicina* (Lep. 1836), *Melipona marginata marginata* (Lepeletier, 1836), *Melipona schenki schenki* (Gribodo, 1893), *Melipona fasciata rufiventris* (Lep., 1836), *Apis mellifera* (L. 1758). Nas 3 primeiras foram executadas contagens na descendência e em tôdas foram verificados detalhes da biologia.

Biologia: — Nos limitaremos aqui sobre os fatos estritamente necessários ao assunto. As operárias de *Melipona* constroem favos horizontais, de uma só camada de alvéolos, sendo estes todos iguais, independentemente de virem a servir para uma operária, rainha ou zangão. Logo que o alvéolo fique pronto, enchem-no até certa altura com pólen, mel e secreção glandular.

Em seguida a rainha aproxima-se, coloca o abdômen dentro da célula e deposita um ovo. Imediatamente uma operária chega e fecha o alvéolo. Após 36 dias aproximadamente, nasce desse alvéolo um zangão, ou uma operária ou uma rainha, todos do mesmo tamanho, porém, conforme a espécie, de formato e cores diferentes. Este detalhe foi também observado por H. VON IHERING (1903), que chegou a afirmar que "esse ovo já tinha a sua evolução predeterminada e que era absurdo indicar a alimentação como causadora das castas". As diferenças entre rainhas virgens e operárias são tão grandes, que di-

ficilmente seriam devidas à alimentação. As principais diferença são : cabeça da rainha menor e os olhos menores e mais estreitos que na operária; a côr da rainha é marron uniforme ao passo que a operária é preta com abdômen marron-avermelhado riscado com bandas amarelas (*M. quadri-fasciata*), ou amarelo-bruno (*M. fasciata rufiventris*), ou marron escuro (*M. schenki*); largura do tórax menor na rainha (3 1/2 mms.) que na operária (3 3/4 a 4, 3/4 mms.).

EFEITOS DA MUDANÇA DE ALIMENTAÇÃO

Para verificar se a formação da rainha seria devida à alimentação, fizemos as seguintes experiências: 1) 10 dias após a postura, tendo a larva cerca de 5 dias, colocámos um excesso de alimentação em aproximadamente 15 alvéolos que retirámos de 10 outros. A diferença nas abelhas nascidas nas células que foram superalimentadas, das que foram subalimentadas foi unicamente de tamanho. Algumas destas últimas eram extremamente menores que as normais (1/3 do tamanho).

2) Poucos dias após a eclosão do ovo abrimos cerca de 20 alvéolos e colocámos nêles "geléia real" de *Apis*. Os que tiveram excesso dêsse material não foram adiante. Dos outros nasceram diversas abelhas e uma rainha, o que provou que não era a alimentação diferente que fazia a distinção em castas.

Essas duas experiências íamos repetir, porém logo de princípio elas nos deram um indício que, somado com os dados biológicos, nos mostravam que a alimentação não tinha influência na formação das castas.

CONSTANCIA DA PROPORÇÃO DAS CASTAS

Outras experiências poderíamos executar tomando como base as variações de alimento, porém surgiu-nos a idéia que a proporção das castas fôsse constante, o que nos levaria a procurar o seu motivo em outra direção.

Foi isso o que fizemos aplicando o seguinte método:

Métodos: — Nas *Meliponas*, as operárias, conforme a estação do ano, logo após o nascimento das rainhas procedem à sua matança, por serem elementos inúteis à colmeia. Devido a isso não podemos analisar a descendência examinando a população na própria colmeia, pois existiriam fatores de eliminação, que falsificariam os resultados finais.

O método que adotamos foi o de retirar da colmeia favos possuindo alvéolos com cria prestes a emergir em número suficiente que permitisse análise estatística. Para não haver confusão entre machos e operárias, foram contados os artigos das antenas de todos os exemplares (os zangões têm 13 artigos e as operárias 12).

RESULTADOS

Foram analisadas 3 colônias de *Melipona quadri-fasciata anthidioides* (n.º 1, n.º 2 e n.º 3), uma de *Melipona quadri-fasciata vicina* (n.º 4) que são tipos grandes, e uma de *Melipona marginata marginata* (n.º 5) que é um tipo pequeno.

Os resultados foram :

M. q. anthidioides. Caixa n.º 1

1.º favo (22-3 a 4-4-946) 69 operárias e 8 rainhas (10,4%).

2.º favo (27-3 a 11-4-946) 144 operárias e 18 rainhas (11,1%).

M. q. anthidioides. Caixa n.º 2

1.º favo (abril) 52 operárias e 8 rainhas (13,3%).

M. q. anthidioides. Caixa n.º 3

1.º favo (12-4 a 23-4-946) 45 operárias e 10 rainhas (18,1%).

M. q. vicina. Caixa n.º 4

1.º favo (Abril) 56 operárias e 4 rainhas (6,6%).

2.º favo (3-5 a 5-5-946) 29 operárias e 4 rainhas (12,1%).

Total para as caixas acima : 395 operárias e 52 rainhas (11,63%).

M. m. marginata. Caixa n.º 5

1.º favo (maio) 34 operárias e 14 rainhas (29,1%).

2.º favo (maio) 83 operárias e 27 rainhas (24,5%).

Total para esta caixa : — 177 operárias e 41 rainhas (25,95%).

Há pelo que vemos uma porcentagem de rainhas de 11,63% nas primeiras 4 caixas e de 25,95% na caixa n.º 5.

Devemos agora executar uma análise estatística por meio do teste X^2 , para verificar se há homogeneidade nas contagens feitas e se de fato os desvios verificados nos dois grupos podem ser atribuídos ao acaso.

Vemos pelos dados acima que os resultados finais estão muito próximos de duas proporções mendelianas da segregação de "back-cross", isto é 7:1 (12,5%) e 3:1 (25%). Resolvemos por isso aceitar estas proporções como valores ideais na execução do teste X^2 .

Primeiramente analisaremos separadamente as caixas n.º 1 e n.º 4 das quais temos duas contagens :

QUADRO 1 — Caixa n.º 1

Casta	Obs.	Esp.	Desvio	X ²		nf
				parciais	subtotais	
1.º favo						
Operárias	69	67,375	1,625	0,0592		
Rainhas	8	9,625	— 1,625	0,2744	0,3136	1
2.º favo						
Operárias	144	141,75	2,25	0,0357		
Rainhas	18	20,25	— 2,25	0,2799	0,2856	1
X ² total					0,5992	2

Limites de Probabilidade: $nf = 1 \begin{cases} 5\% = 3,8 \\ 1\% = 6,6 \end{cases} \quad nf = 2 \begin{cases} 5\% = 6,0 \\ 1\% = 9,2 \end{cases}$

QUADRO 2 — Caixa n.º 4

Castas	Obs.	Esp.	Desvio	X ²		nf
				parciaes	subtotais	
1.º favo						
Operárias	56	52,5	3,5	0,23333		
Rainhas	4	7,5	— 3,5	1,63331	1,86664	1
2.º favo						
Operárias	29	28,875	0,125	0,00054		
Rainhas	4	4,125	— 0,125	0,00378	0,00432	1
X ² total					1,87096	2

Limites de Probabilidade: $nf = 1 \begin{cases} 5\% = 3,8 \\ 1\% = 6,6 \end{cases} \quad nf = 2 \begin{cases} 5\% = 6,0 \\ 1\% = 9,2 \end{cases}$

Agora vejamos a análise de todas as 4 caixas.

QUADRO 3

Caixas	Castas	Obs.	Esp.	Desvio	X ²		nf
					Parciais	Subtotais	
Caixa n.º 1	Operárias	213	209,125	3,875	0,0718		1
	Rainhas	26	29,875	3,875	0,5026	0,5744	
Caixa n.º 2	Operárias	52	52,5	0,5	0,0048		1
	Rainhas	8	7,5	0,5	0,0336	0,0384	
Caixa n.º 3	Operárias	45	48,125	3,125	0,2092		1
	Rainhas	10	6,875	3,125	1,4644	1,6736	
Caixa n.º 4	Operárias	85	81,375	3,625	0,1615		1
	Rainhas	8	11,625	3,625	1,1305	1,2920	
X ² total						3,5784	4
Todas as Caixas	Operárias	395	391,125	3,875	0,0384		1
	Rainhas	52	55,875	3,875	0,2688	0,3072	

Limites de Probabilidade : $nf = 4 \begin{cases} 5\% = 9,5 \\ 1\% = 13,3 \end{cases} \quad nf = 1 \begin{cases} 5\% = 3,8 \\ 1\% = 0,3 \end{cases}$

Finalmente temos a análise da caixa n.º 5, de *Melipona marginata marginata*, que é uma espécie mais rústica e talvez mais primitiva que as outras estudadas. Nessa espécie a segregação foi de 3:1 e não de 7:1 como as outras. Verificamos isso pelo teste X² :

QUADRO 4

Fa- vos	Castas	Obs.	Esp.	Desvio	X ²		nf
					Parciais	Subtotais	
1.º	Operárias	34	36	2	0,1111	0,4444	1
	Rainhas	14	12	2	0,3333	0,4444	
2.º	Operárias	83	82,5	0,5	0,0030		1
	Rainhas	27	27,5	0,5	0,0091	0,0121	
X ² total						0,4565	2

Limites de Probabilidade : $nf = 1 \begin{cases} 5\% = 3,8 \\ 1\% = 6,6 \end{cases} \quad nf = 2 \begin{cases} 5\% = 6,0 \\ 1\% = 9,2 \end{cases}$

Interpretação Genética: — Comprovámos pela análise estatística que existem duas proporções constantes entre operárias e rainhas, as quais correspondem a 7:1 ou 12,5% e 3:1 ou 25%. O fato de serem duas proporções mendelianas concorre para tornar mais improvável tratar-se de uma proporção indefinida ou artificial. Tentámos então encontrar uma fórmula mendeliana.

A proporção 7:1 é encontrada nos "back-crosses" do tipo

$$\text{AaBbCc} \times \text{aabbcc} \text{ no qual a frequência da segregação é } \frac{1}{8} : \frac{7}{8}$$

Adatando estas considerações ao nosso caso temos que a rainha deve corresponder a uma das 8 constituições mendelianas de 3 pares de fatores. A rainha deve estar constituída de tal maneira que possa originar todos os tipos encontrados na colônia; portanto a sua constituição é a triplamente heterozigota:

Aa Bb Cc

Do outro lado os 7 tipos restantes, que possuem homozigose para um, dois ou três pares de fatores serão operárias.

Devemos lembrar que os Meliponídeos, como a grande maioria dos Himenópteros, são arrenóticos, isto é, os indivíduos partenogenéticos são machos. Temos daí que a fórmula genética para os zangões será qualquer uma destas correspondentes à segregação gônica da rainha.

ABC, AbC, Abc, aBC, aBc, abC, abc

Para maior clareza do que foi exposto daremos aqui alguns exemplos. Tomaremos o caso de uma rainha fecundada por um macho: ABC, por outro abc e outro AbC. (Veja o Quadro 5).

Um resultado idêntico se observará cruzando a rainha com qualquer outro zangão.

A condição portanto para que a fêmea seja rainha é a de ser completamente heterozigota, pois assim ela dará todos os tipos existentes na colmeia.

Desde que haja um par de fatores homozigotos, ela será uma operária.

A explicação para a espécie *Melipona marginata*, em que obtivemos uma segregação de 3:1 (25%), segue o mesmo raciocínio que nas anteriores, somente que a fórmula ao invés de ser trifatorial é bifatorial.

Assim a rainha terá a fórmula duplamente heterozigota:

AaBb

Conclusão: Temos portanto dois tipos de segregação para castas nos meliponídeos, de 7:1 e de 3:1. As operárias são fêmeas, que apesar de possuírem ovários e adjacentes perfeitamente desenvolvidos, são incapazes de se tornarem poedeiras. Isso faz das *Meliponas* um tipo intermediário entre as abelhas solitárias, que com uma mesma alimentação todas as fêmeas nascem férteis, e as diversas espécies de *Apis* e *Trigona*, que sem alimentação especial todas nascem estéreis. Não daremos por enquanto nenhuma hipótese sobre a origem e evolução do mecanismo determinante das castas antes de estudarmos mais espécies que nos permitam caminhar em terreno mais firme.

NOTA: Após a entrega do manuscrito deste trabalho à publicação, continuámos as contagens e verificámos que durante o inverno, devido provavelmente à escassez de alimento, a porcentagem de rainhas caiu repentinamente para 3,45% na *M. quadrifasciata* e para 6,50% na *M. marginata*. Em Outubro as porcentagens nas *M. marginata* e *M. quadrifasciata* retornaram à sua produção antiga.

Interpretamos provisoriamente estes dados com a hipótese de que há um processo de eliminação provocado pela deficiência de alimento fornecido à rainha, tratando-se talvez de um caso especial de oosorção.

Agradecimentos — Agradecemos sobretudo a orientação, estímulo e instrução do Prof. F. G. Brieger.

Somos gratos ao Dr. A. Dreyfus e D. Marta Breuer pelos primeiros trabalhos que foram executados em sua Seção; ao Pe. J. Moure, C. M. F., pela gentileza em nos classificar o material; ao Dr. F. Lane por nos fornecer preciosa bibliografia; ao meu pai, Sr. Americo Kerr, pelo esforço e dedicação dispensados com estes trabalhos nos três primeiros anos de estudos; finalmente, queria agradecer aos meus conterrâneos que muito auxiliaram na coleta de material: Srs. Antonio Salustiano, João Sebastião, João S. Bueno, Raimundo Z. da Silva e Amaro R. dos Santos.

Sumário — O fito da presente nota é provar que no gênero *Melipona* não é a alimentação a responsável pelas castas, e sim a constituição genética diferente.

Nos alvéolos de *Meliponas* não existe variação de tamanho e nem de alimentação, quer venha a servir para machos, operárias ou rainhas.

Mudanças de alimentação não provocaram a formação de rainhas.

Foram estudadas as descendências de 5 colônias de *Melipona* num total de 605 indivíduos. Aplicado o teste X² verificou-se que houve uma segregação de 7:1 nas *Meliponas* gran-

des e 3:1 na pequena (*M. marginata marginata*).

Propoz-se a fórmula AaBbCc para explicar a constituição da rainha no primeiro caso e AaBb no segundo, sendo os machos partenogenéticos e as operárias com qualquer constituição em que haja homozigose ao menos para um par de fatores.

ABSTRACT

The present work is destined to prove that the castes : workers and queens, in *Melipona* bees are due to genetic factors and not to differences in food.

2) Material used: Hives of *Melipona quadri-fasciata anthidioides* (Lep. 1836), *M. schenki schenki* (Gribodo, 1893), *M. fasciata rufiventris* (Lep. 1836), *M. quadri-fasciata vicina* (Lep. 1836), *M. marginata marginata* (Lep. 1836), *Apis mellifera* (L. 1758).

3) It should be pointed out that in *Melipona* bees there are no royal cells for the queens, but all the cells are of the same size independently of being destined for workers, queens or drones.

The numerous queens which are born are killed soon after emerging from their cells.

4) Changes of feeding in quality and in quantity caused no variation of castes. The only variable factor is the size, which becomes bigger when the bee is well nourished.

5) The offsprings of 5 hives were examined : 3 of *M. quadri-fasciata anthidioides* (n.o 1, n.o 2 and n.o 3), 1 of *M. quadri-fasciata vicina* (n.o 4) and 1 of *M. marginata marginata* (n.o 5).

Combs of about 40 cells were taken into laboratory and the type of bee registered immediately after emerging.

The results of the counts were:

Box	Comb	Worker	Queen	Percentage	ΣX^2 to 12,5%
N.º 1	1th	69	8	10,4%	0,3136
" 1	2nd	144	18	11,1%	0,2856
" 2	1th	52	8	13,3%	0,0384
" 3	1th	45	10	18,2%	1,6736
" 4	1th	56	4	6,7%	1,8686
" 4	2nd	29	4	12,1%	0,00432
					ΣX^2 to 25%
" 5	1th	34	14	29,2%	0,4444
" 5	2nd	83	27	24,5%	0,0121

In the 4 first boxes there is a percentage of 11,63% queens and in the last there is a percentage of 25,95%.

6) These percentages are very near two genetical ratios: 12,5% or 7:1, and 25% or 3:1, which correspond to a trifactorial and a bifactorial back-cross.

Carrying out a X^2 test no significant deviations were found (X^2 to 12,5% and to 25% and table 1 to 4).

7) We suppose that the formula for the queen in the first case (11,65%) is: AaBbCc. Since the *Melipona* bees are arrhenotokous hymenopteres, the drones are haploid and may have any one of the following eight formulas, corresponding to the gonic segregation of the queen : ABC, ABc, Abc, Abc, AbC, aBC, aBc, abC, abc.

Anyone combination of these males with the queen will give a segregation of 7 workers to 1 queen, since there is always only one triple heterozygote among the eight possible segregates (table 5).

8) In order to explain the second case, it is sufficient to assume that in this species there are only two pairs of factors, the queen being the double heterozygote : AaBb, while the drones may have any one of the following constitutions: AB, Ab, aB and ab. Workers are again all diploids which are homozygous for one or both factors, for instance: AABB, AABb, AaBB, aaBb, AAbb, etc. (table 6).

9) It is suggested that the genus *Melipona* is an intermediary type between the solitary bees, where all females are fertile independently of their feeding, and the genera *Apis* and *Trigona*, where without special feeding all females are born sterile, while only specially fed females develop into fertile queens.

10) No speculations are put forward with regards to the evolutionary mechanism which may have been responsible for the development of the genetical determination of castes in

Melipona, since it seems advisable point to extend the studies to other insects with complicated caste systems.

Note — After handing in the manuscript of this paper we continued the counts and we found that during the winter the percentage of queen fallen down to 3,45% in *M. quadrifasciata* and 6,50% in the *M. Marginata*, perhaps due to the lack of food. We think this may be a case of oosorption. The percentage in *M. Marginata* and *M. quadrifasciata* returned to its original proportion in October.

BIBLIOGRAFIA

- BRIEGER, F. G. — 1937 — Tábuas e Fórmulas para Estatística — 46 pgs. Cia. de Melhoramentos de S. Paulo — São Paulo.
- DREYFUS, André e BREUER, Marta Erps — 1944 — O sexo nos Himenóptero Arrenótocos. Bol. Fac. Fil. Cienc. Let. Biologia Geral, n.o 5.
- GURGEL, J. T. A. — 1943 — Análise estatística das segregações mendelianas. O Solo. 35: 47-78.
- IHERING, H. V. — 1903 — Biologia das Abelhas Mellíferas do Brasil. Traduzido do Zoolog. Jahrbucher, 19: 179-287.
- KERR, W. E. — 1945 — Contribuição para a Biologia dos Meliponídeos — O Solo. Vol. 36 — 1946.
- MARIANO, José — 1911 — Ensaio sobre as Meliponas do Brasil. Rio de Janeiro.
- MOURE, P. J. — 1944 — Abelhas de Monte Alegre. Arquiv. Zool. 6 (10): 103-126.
- MOURE, P. J. — 1944 — Apoidea da Coleção do Conde Amadeu A. Barbiellini — Rev. Ent. 15:3.
- PEREZ, F. — 1895 — On the production of males and females in *Melipona* and *Trigona*. Am. Mag. Nat. Hist. Pg. 125-127.

SALT, George — 1929 — Trans. Entomol. Soc. London. 77: 431-470.

SCHWARZ, H. F. — 1932 — The Genus *Melipona*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 63: 231-460. Fig. I-X.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Fig. 1 — Rainha virgem de *Melipona quadri-fasciata anthidioides*.

Fig. 2 — Operária de *Melipona quadri-fasciata anthidioides*.

Fig. 3 — Favo de cria de *M. quadri-fasciata anthidioides*, onde pode-se verificar a uniformidade das células.

